





دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی بوشهر

دانشکده پزشکی

پایان نامه دوره دکترای حرفه ای پزشکی:

بررسی ارتباط پروفایل چربی با عفونت کلامیدیا نومونیا در

مطالعه قلب سالم بوشهر در سال ۸۹-۱۳۸۸

دانشجو:

هادی دادجو

اساتید راهنما:

دکتر ایرج نبی پور استاد گروه داخلی

دکتر کتایون وحدت دانشیار گروه عفونی

استاد مشاور:

دکتر فهیمه هداوند استادیار گروه عفونی

مرداد ماه ۱۳۹۲

تقدیم بابوسہ بردستان پدرم:

بہ او کہ نمی دانم از بزرگی اش بگویم یا مردانگی سخاوت، سکوت، مهربانی و.....

پدرم راه تمام زندگیست

پدرم دین خوشی، همیشگیست

تقدیم بہ مادر عزیزتر از جانم:

مادرم، ہستی من ز ہستی تو ست تا، ہستم و ہستی دارم مت دوست

غمسار جاودانی مادر است

چشمه سار مهربانی مادر است

تقدیم به بهترینم، همسر بی همتایم:

او که مهتاب آسمان زندگیم شد و آرامش و عشق رادکنارش تجربه کردم.

تقدیم به خواهر و برادر عزیزم

آنان که صفا و صمیمیت و مهرورزی رادکنارشان آموختم

سپاس بی کران پروردگار یکتا را که هستی مان بخشید و به طریق علم و دانش را، نمونه‌مان شد و
به همیشگی رهروان علم و دانش مفتخرمان نمود و خوشه چینی از علم و معرفت را
روزمان ساخت.

به مصداق «من لم یسکر المخلوق لم یسکر الخالق» بسی شایسته است از اساتید فریخته
و فرزانه جناب آقای دکتر نبی پور و سرکار خانم دکتر وحدت که با کرامتی چون
خورشید، سرزمین دل را روشنی بخشیدند و گلشن سرای علم و دانش را با بارانهای مای
کار ساز و سازنده بارور ساختند؛ تقدیر و تسکین نمایم.

معلمقامت ز عرش برتر باد همیشه تو سن اندیشه ات مظفر باد

به نکته های دلاویز و گفته های بلند صحیفه های سخن از تو علم پرور باد

چکیده

زمینه: عفونت مزمن با کلامیدیا پنومونیا به عنوان یک عامل جدید خطر ساز برای بیماریهای قلبی- عروقی مطرح می باشد. چنین تصور میشود که بخشی از القاء پدیده آترواسکلروز بواسطه ی عفونت با این میکروارگانیزم، برخاسته از اثر آن بر سطح متابولیسم لیپیدهای سرمی می باشد.

مواد و روشها: به منظور یافت همبستگی سرولوژی مثبت IgG علیه کلامیدیا پنومونیا با اختلالات لیپیدی، ۱۷۹۱ نفر (۵۰/۸ درصد زن و ۴۹/۲ درصد مرد) بالای ۲۵ سال، طی یک نمونه گیری تصادفی خوشه ای چند مرحله ای از شهرهای بوشهر، گناوه و دیلم در شمال خلیج فارس در استان بوشهر بر اساس تعریف ATP3، NCEP از لحاظ اختلالات لیپیدی و انجام سرولوژی آنتی بادی اختصاصی IgG علیه کلامیدیا پنومونیا به روش الیزا مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته ها: شیوع سرولوژی مثبت IgG علیه کلامیدیا پنومونیا در جمعیت مورد مطالعه ۴۰/۷ درصد بود (مردان ۵۵/۳ درصد و زنان ۳۵/۸ درصد؛ $P < 0.0001$). بر اساس آنالیز رگرسیون لجستیک چندگانه، شیوع سرولوژی مثبت IgG علیه کلامیدیا پنومونیا تنها HDL و کلسترول پایین به صورت معنی داری پس از کنترل عوامل خطر ساز قلبی- عروقی و CRP فراحساس از فرد، همبستگی نشان داد ($P < 0.0001$ ، $OR = 1.72-2.62$ ، $OR = 2.2$).

نتیجه گیری: آنتی بادی های اختصاصی IgG علیه کلامیدیا پنومونیا با HDL و کلسترول پایین، مستقل از عوامل خطر ساز قلبی- عروقی همبستگی دارد. از این رو این میکروارگانیزم به عنوان پاتوژنی که در ایجاد پروفایل لیپیدی آتروژنیک نقش دارد، قابل طرح می باشد.

واژگان کلیدی: کلامیدیا پنومونیا، عفونت مزمن، اختلالات لیپیدی، HDL، کلسترول

فهرست مطالب

عنوان.....	۲
چکیده پژوهش.....	۷
فصل اول: مقدمه.....	۱۰
۱. کلیات.....	۱۱
۱.۱. داده های سرواپیدمیولوژیک.....	۱۴
۱.۲. جداسازی مستقیم کلامیدیا پنومونیا در آترواسکلروز.....	۱۶
۱.۳. آزمایشات مدل های حیوانی.....	۱۷
۱.۴. مطالعات مولکولی ایمونولوژیک.....	۱۸
۱.۵. کارآزمایی های مداخله ای آنتی بیوتیکی.....	۲۱
۱.۶. آیا می توان آترواسکلروز را به عنوان یک بیماری.....	۲۴
۱.۷. چرخه تکاملی.....	۲۵
۲. بیان مسئله.....	۲۸
۳. اهداف و فرضیات.....	۲۹
۳.۱. هدف اصلی.....	۲۹
۳.۲. اهداف فرعی.....	۲۹
۳.۳. اهداف کاربردی.....	۳۰

۳۰.....	۳.۴. فرضیات پژوهش
۳۱.....	فصل دوم: مروری بر متون
۳۲.....	۱. مروری بر مطالعات پیشین
۳۴.....	فصل سوم: مواد و روشها
۳۵.....	۱. روش کار
۳۶.....	فصل چهارم:
۳۷.....	۱. نتایج
۳۹.....	فصل پنجم: بحث و نتیجه گیری و پیشنهادات
۴۰.....	۱. بحث
۴۴.....	۲. نتیجه گیری
۴۵.....	۳. پیشنهادات
۴۶.....	پیوست
۴۹.....	منابع

فصل اول

مقدمه

کلیات

بیان مسئله

اهداف و فرضیات

کلیات:

در آغاز قرن بیستم بیماریهای قلبی - عروقی علت کمتر از ۱۰٪ کل مرگ و میر در جهان به شمار می رفت اما در پایان آن دوره این بیماری نزدیک به نیمی از کل مرگ و میر در کشورهای توسعه یافته و ۲۵٪ از مرگ و میر در کشورهای در حال توسعه را تشکیل دادند (۱ و ۲). بر خلاف پیشرفت شیوه های تشخیصی و درمانی در خلال دهه های گذشته، سکته قلبی هنوز هم یک مسئله بهداشتی بسیار مهم در کشورهای صنعتی محسوب می شود و اهمیت آن در کشورهای در حال توسعه هم رو به افزایش است (۳). اگرچه که میزان مرگ ناشی از سکته قلبی طی دهه گذشته به حدود ۳۰٪ کاهش یافته است ولی شیوع آن هنوز هم یک حادثه مرگبار برای قریب به یک سوم بیماران محسوب می شود (۴). بر اساس آخرین برآوردها به نظر می رسد تا سال ۲۰۲۰ میلادی، بیماریهای قلبی عروقی موجب ۲۵ میلیون مرگ و میر در سال باشند و بیماریهای عروق کرونر از بیماریهای عفونی پیشی گرفته و حتی عنوان اولین علت مرگ و از کار افتادگی را به خود اختصاص داده است (۵). علت اکثر موارد بیماری های شریان کرونر قلب (CAD) فرایند آترواسکلروزیس می باشد. آترواسکلروزیس باعث انسداد عروق کرونر، مغزی و محیطی می شود که می تواند منجر به ناتوانی قابل توجه و کاهش بهره وری شود که از مهمترین علل هزینه ساز مراقبتهای بهداشتی محسوب می شود (۸-۶). عوامل خطر ساز کلاسیک و اصلی ایجاد و پیشرفت آترواسکلروز فشارخون بالا، کلسترول سرم افزایش یافته و مصرف سیگار می باشند؛ به علاوه عواملی چون سن بالا، جنسیت، چاقی و دیابت، TG سرم بالا و پایین بودن HDL نیز از عوامل مستعد کننده ایجاد آترواسکلروز شناخته شده است (۹). با این حال در ۲۰-۱۰٪ از بیماران با وجود آترواسکلروز هیچکدام از عوامل فوق یافت نشده است که مطرح کننده وجود عوامل جدید در ایجاد و پیشرفت آترواسکلروز می

باشد (۱۰). امروزه مشخص شده است که آترواسکلروز یک بیماری التهابی است که در اثر مواجهه اندوتلیوم عروق با کمپلکس های ایمنی زیادی که در اثر محرک های التهابی متفاوت تشکیل می شوند، ایجاد می شود (۹). همچنین التهاب فرآیند اصلی در ترک خوردن پلاک های آتروماتو و پاره شدن پلاک ها و ایجاد عوارض مربوطه می باشد (۹ و ۱۱). یکی از موضوعات جالب در تحقیقات عروقی که در دهه اخیر قوت گرفته، فرضیه عفونی ایجاد آترواسکلروز است که مطرح کننده وجود نقش یک یا چند ارگانیسم عفونی است که می تواند در تشکیل آتروما^۱ و انسداد عروق^۲ از طریق مکانیسم های پیش التهابی نقش داشته باشند (۱۴-۱۲). عفونت های ویروسی و باکتریال مختلفی می توانند با ریسک فاکتورهای کلاسیک بیماری های قلبی - عروقی مثل: استعمال دخانیات، پرفشاری خون، قند خون بالا، اختلال چربی خون و محرک های پیش التهابی مثل: هموسیستین، آنژیوتانسین^۲، رادیکال های آزاد، سایتوکین ها و کموکین ها تداخل ایجاد کنند (۹ و ۱۵ و ۱۶). ظهور این محرک های پیش التهابی قویاً مطرح کننده وجود یک بار عفونی با اثر التهابی سیستمیک و اندوسکولار می باشد که می تواند سبب پیشرفت آترواسکلروز و عواقب کلینیکی آن شود (۱۹-۱۷). شواهد مطرح کننده نقش عفونت در ایجاد آترواسکلروز از منابع متنوعی تحصیل شده است که عبارتند از: ۱- داده های سرواپیدمیولوژیک^۲ - جدا کردن مستقیم میکروارگانیسم ها از درون پلاک های آترواسکلروتیک^۳ - مدل های حیوانی که بیانگر القا یا تسهیل آترواسکلروز بوسیله ویروس ها و باکتری ها بود^۴ - اثبات توانایی میکروارگانیسم های عفونی یا بخش های ساختاری آنها در القا اثر پروآتروژنیک^۳ و پروترومبوتیک در سلول های (منوسیت، ماکروفاژ، لنفوسیت T، سلول های اندوتلیال و سلول های عضلانی صاف) مشارکت کننده در آترواسکلروز^۵ - همراهی قوی بین عفونت های خاص مثل CMV با پیوند آترواسکلروز^۶ - انجام مداخلات آنتی بیوتیکی ضد کلامیدیا (۱۲ و ۱۶ و ۱۹). عوامل عفونی

^۱ Atherogenesis

^۲ Atherothrombosis

^۳ Pro-atherogenic

که در ایجاد آترواسکلروز دخیل دانسته شده اند متنوعند (۲۰ و ۱۹). (جدول ۱ پیوست). با این وجود بیشترین تحقیقات در مورد CMV (سیتومگالوویروس)، کلامیدیا پنومونیا و هلیکوباکتریلوری است و بیشترین شواهد مؤید نقش کلامیدیا پنومونیا در ایجاد آترواسکلروز است (۱۲ و ۱۳ و ۱۶ و ۱۹). کلامیدیا پنومونیا یک باکتری گرم منفی اجباری و پاتوژنی درون سلولی است که به عنوان علت اولیه بیماری تنفسی در بزرگسالان شناخته می شود و علت حدود ۲۰-۵۰٪ از موارد پنومونی اکتسابی از جامعه می باشد (۲۱). شیوع آنتی بادی علیه کلامیدیا پنومونیا در بزرگسالان در حدود ۵۰٪ و در افراد مسن تر افزایش یافته و به حدود ۷۰٪ می رسد (۲۶-۲۲). تشخیص کلامیدیا پنومونیا مشکل است و در استفاده از تستهای سرولوژی نیز محدودیتهایی وجود دارد (۲۰ و ۱۴). تست میکروایمونوفلورسانس (MIF) به عنوان روش استاندارد سرولوژی تعیین عفونت با کلامیدیا پنومونیا شناخته شده است (۱۴ و ۲۰ و ۲۷)؛ همچنین روش الیزا^۴ به طور کلی در حدود ۹۰٪ با حساسیت و ویژگی روش MIF همخوانی دارد (۲۰ و ۱۴). این روش به عنوان یک روش که کمتر تحت تأثیر تفسیر اپراتور و آزمایش کننده قرار می گیرد و کمتر وابسته به اپراتور است مورد بررسی قرار گرفته است (۲۰ و ۱۴). عفونت اولیه با کلامیدیا پنومونیا با ظهور قابل توجه ایمونوگلوبولین (IgM)M، افزایش تأخیری تیترا ایمونوگلوبولین (IgG)G و سطح پایین IgA مشخص می شود عفونت ثانویه با کلامیدیا پنومونیا خود را با سطح افزایش یافته IgG و IgA و عدم حضور IgM مشخص می شود (۲۸). در مورد ویژگیهای تشخیصی عفونت مزمن با کلامیدیا پنومونیا اختلاف نظر وجود دارد. با این وجود سطح افزایش یافته IgA/IgG بیانگر عفونت قبلی با کلامیدیا پنومونیا است ولی دقیق معلوم نیست که مربوط به عفونت مقاوم یا عفونت فعال مزمن یا عفونت مجدد می باشد (۱۴ و ۱۶ و ۲۹).

^۴. Enzyme- linked immunosorbent assay

داده های سرواپیدمیولوژیک:

پیشنهاد همراهی کلامیدیا پنومونیا و آترواسکلروز برای اولین بار بر می گردد به مطالعه سایکو^۵ و همکاران در سال ۱۹۸۸ (۳۰). آنها نشان دادند که در بیماران مبتلا به CAD وجود آنتی بادی ضد کلامیدیا پنومونیا شایعتر از گروه شاهد است. در سال ۱۹۹۶ ویممر^۶ و همکاران ثابت کردند که افزایش سطح مارکرهای سرولوژیک کلامیدیا پنومونیا در همراهی با بیماریهای عروق مغزی نیز دیده می شود (۲۹). نتایج مشابه سرواپیدمیولوژیک بوسیله ۳۸ مطالعه با مدل‌های مختلف (گذشته نگر، مقطعی، مورد شاهدی یا آینده نگر) در سرتاسر دنیا مورد تأیید قرار گرفته است همچنین وجود ارتباط بین شواهد سرواپیدمیولوژیک کلامیدیا پنومونیا و آترواسکلروز در شریان های سایر نواحی گزارش گردیده است (۳۱). با این وجود گزارشهای حاصل از چندین مطالعه آینده نگرانه اخیر حاکی از رد وجود ارتباط و همراهی بین آنتی بادی ضد کلامیدیا پنومونیا و CAD بوده است (۲۰ و ۳۲ و ۳۳). برخلاف مطالعات مقطعی؛ مطالعات آینده نگرانه در جستجوی تعیین یک ارتباط زمانی بین عفونت و آترواسکلروز است مثل ارتباط بین عفونت قبلی با کلامیدیا پنومونیا و آترواسکلروز/ پارگی پلاک آینده که در اثر عوارض کلینیکی آن می باشد. اگرچه این نتایج منفی نباید نادیده گرفته شوند ولی محدودیتهای ذاتی در مطالعات سرواپیدمیولوژیک نیز باید با احتیاط لحاظ شود (۱۶ و ۲۰). اخیراً محققان وجود ارتباط بین عفونت با کلامیدیا پنومونیا و آنوریسم آئورت شکمی (AAA) را نشان داده اند. آنها دریافته اند که آنتی بادی IgG و IgA ضد کلامیدیا پنومونیا دارای همبستگی مثبت با گسترش و پیشرفت آنوریسم آئورت شکمی است و این مارکرها شاید بتواند پیشگویی کننده نیاز به درمان جراحی الکتیو بر روی آنوریسم های کوچک باشد (۳۴ و ۳۵). ارتباط بین کلامیدیا پنومونیا با آغاز یا پیشرفت آترواسکلروز در مطالعات سرواپیدمیولوژیک شاید به صورت

^۵. Saikku

^۶. Wimmer

مستقیم نباشد و آن به دلیل وجود عوامل خطر ساز عروقی مداخله گر زیادی مثل: مصرف دخانیات، پرفشاری خون، دیابت و هیپر کلسترولمی می باشد. شیوع این عوامل مداخله گر می تواند درون جمعیت ها و بین جمعیت های مختلف متفاوت باشد و شاید آنها سبب تعدیل یا حتی مخفی ماندن ارتباط اندک بین عفونت کلامیدیا پنومونیا و آترواسکلروز شود. تفسیر و مقایسه مطالعات سرواپیدمیولوژیک به وسیله تعریف متفاوتی که هر مطالعه از سروپازیتیویتی دارد مختل می گردد (۱۴و ۱۶و ۲۰). جدا از روش های متفاوت تست های سروولوژیک (MIF و ELISA) حد برش به کار رفته^۷، زمان نمونه گیری نسبت به عوارض اتفاق افتاده و مرحله کلینیکی بیماری آترواسکلروتیک عروق، به صورت گسترده ای در مطالعات مختلف سرواپیدمیولوژیک متفاوت است (۳۶). از طرفی عدم مطابقت و هماهنگی بین یافته های حاصل از روش سرولوژی (MIF) و روش PCR روی بافت حاصل از نمونه برداری از عروق در مورد حضور اندووسکولار کلامیدیا پنومونیا از مشکلات دیگر است (۲۹)، لذا شاید سرولوژی کلامیدیا پنومونیا مارکری قوی و قابل اعتماد از عفونت اندووسکولار نباشد (۲۹و ۳۷و ۳۸) و مخصوصاً قادر به شناسایی زیر گروه های مهمی از بیماران مبتلا به عفونت زمینه ای مقاوم یا عفونت فعال مزمن اندووسکولار با کلامیدیا پنومونیا نمی باشد. اگر این زیر گروه ها از بیماران شناسایی شوند می توان فرض بر این گذاشت که می توان آنها را مورد ریشه کنی با آنتی بیوتیک قرار داد و درمان کرد. از روش PCR برای یافتن DNA کلامیدیا پنومونیا در مونوسیت های خون محیطی استفاده شده است و این روش نشان داده است که همراهی بهتری بین عفونت پایدار اندووسکولار با علامت کلینیکی آن وجود دارد (۳۹و ۴۰). امروزه تلاش می شود تا یک روش استاندارد و یکسان برای تشخیص کلامیدیا پنومونیا از بین تست های آزمایشگاهی انتخاب و پیشنهاد شود (۲۷).

⁷.Cut-off limits

جداسازی مستقیم کلامیدیا پنومونیا در آترواسکلروز:

در سال ۱۹۹۲ شور^۸ و کو^۹ اولین کسانی بودند که اقدام به شناسایی کلامیدیا پنومونیا در بافت آترواسکلروتیک عروق کرونر به وسیله میکروسکوپ الکترونی (EM)، PCR و ایمونوسیتوشیمیایی (ICC) کردند (۴۱ و ۴۲). از آن زمان تا کنون حدود ۴۵ گزارش مبنی بر حضور کلامیدیا پنومونیا نه تنها در عروق کرونر بلکه در عروق سایر نواحی (کاروتید، آئورت، فمورال، پوپلیتال، عروق پیوندی) که در آنها آترواسکلروز اتفاق افتاده منتشر گردیده است. که این تشخیص ها با روش های متفاوتی مثل PCR، ICC و EM انجام گردیده بودند (۳۱). درصد یافتن ارگانیزم در نواحی آتروما حدود ۶۰٪، در مقابل ۳٪ در شرابین گروه کنترل بود (۴۳). از ۳۸ مورد اتوپسی که توسط جکسون و همکارانش گزارش گردیده است درصد یافتن کلامیدیا پنومونیا در بیماران قلبی - عروقی حدود ۵۰-۲۹٪ بوده است و در مقابل در افراد سالم از نظر بیماری های قلبی - عروقی حدود ۱۳-۵٪ و در بیماری های گرانولوماتوز حدود ۹٪ گزارش شده است (۴۴). اگرچه نتایج تأیید کننده نقش علیتی کلامیدیا پنومونیا در ایجاد آترواسکلروز نبوده است با این حال نشانگر وجود یک گرایش مهم در کلامیدیا پنومونیا به سوی بافت های آترواسکلروتیک می باشد. همچنین محققین در مطالعاتی در یافته اند که توزیع کلامیدیا پنومونیا در عروق؛ متناسب و همراه با توزیع ضایعات آترواسکلروتیک است (۴۵). همچنین کشت کلامیدیا پنومونیای قابل حیات از پلاک های آتروماتو صورت گرفته است که پیشنهاد کننده ارتباط علیتی بیشتری می باشد (۴۶-۴۹). در مقابل آنتی ژن کلامیدیا پنومونیا از دیواره عروق طبیعی یا بخش غیر آترواسکلروتیک عروق در بیماران دچار آترواسکلروز قابل جداسازی نبود (۳۱).

⁸. Shor

⁹. Kou